

学校编码: 10384
学 号: 32320121153092

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

基于在线全二维制备液相色谱系统的
银杏叶化学成分研究

Online comprehensive preparative two-dimensional
liquid chromatography system for isolation of
Folium Ginkgo chemical ingredients

陈龙江

指 导 教 师: 吴 振 教 授

丘鹰昆 副教授

专 业 名 称: 药 物 化 学

论文提交日期: 2015 年 5 月

论文答辩时间: 2015 年 5 月

学位授予日期: 2015 年 6 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2015 年 5 月

基于在线全二维制备液相色谱系统的银杏叶化学成分研究

陈龙江

指导老师

吴振教授

丘鹰昆 副教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外，该学位论文为()课题(组)的研究成果，获得()课题(组)经费或实验室的资助，在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博士论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文(包括纸质版和电子版)，允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

()1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

()2.不保密，适用上述授权。

(请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。)

声明人(签名)：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库



银杏叶



在线全二维制备液相色谱系统

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

复杂成分的快速、高效分离一直是天然产物研究的一个难点，本文以银杏叶总提取物为研究对象，以聚酰胺 \times C18 模式的全二维制备液相色谱系统为主要分离手段对银杏叶成分进行在线的分离与纯化。

首先，基于聚酰胺在银杏叶成分研究上的成熟应用，本研究将其与分离机理差异较大的 C18 串联在一起，以中压液相色谱 \times 制备型高效液相色谱（MPLC \times *prep*-HPLC）系统为基础，组成聚酰胺 \times 反相（PA \times RPLC）制备型全二维液相色谱系统。通过该串联模式与其他几种常用串联模式正交性的比较，证明了该串联模式的很好正交性。银杏叶总样经过 C18 初步分离，共分成 20%、40%、60%、80%和 100%五个组分，通过综合的考察，最终选择了 60%组分作为后续在线分离的样品。

然后，在确认了在线制备型全二维液相色谱系统的工作参数后，以构建的系统对 60%组分进行实际在线分离。通过该系统一次操作，共制备得到 16 个单体化合物，其中 13 个化合物以核磁共振和质谱数据对其结构进行了表征。将该结果与传统一维制备的分离结果比较发现，该系统在获得的化合物数目、纯度和速度方面都远远优于传统方法，显示了很高的分离效率。

最后，以简单的一维制备技术，通过制备条件的优化，对 80%组分和 100%组分进行制备分离，共得到 5 个双黄酮化合物。通过在线全二维制备液相色谱和传统一维制备液相色谱，本研究共制备得到 21 个化合物，其中 18 个化合物的结构通过核磁共振和质谱手段得以表征。本研究实现了以在线手段快速、高效分离银杏叶中的成分，为将来银杏叶全息图谱的构建和活性成分的研究提供了一定的物质基础。

关键词：MPLC \times *prep*-HPLC；聚酰胺 \times 反相；银杏叶

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Rapid and efficient separation of complex active ingredients has always been the difficult problems in the natural products research. In this work, we used the total extract of ginkgo bilabo as the research object, comprehensive preparative two dimensional liquid phase chromatography system(Polyamide \times C18) as the main separation method to realize the on-line isolation and purification of the main components of folium ginkgo.

Firstly, polyamide was widely used for separation and purification of folium ginkgo constituents, according to the different separation mechanism between the polyamide column chromatography and reversed-phase chromatpgraphy, a new two-dimensional medium pressure liquid chromatography \times preparative high performance liquid chromatography(2D-MPLC \times *prep*-HPLC) system was constructed. By comparing this two-dimensional polyamide \times reversed phase liquid chromatography(2D-PA \times RPLC) system with several other couple system, we had demonstrated the perfect orthogonality of this system. Due to the extremely complexity of total extract, it was not suitable for direct separation by the new designed system, so the total extract went through a preliminary separation process by C18 open column chromatography. It was divided into five methanol elutions(20%, 40%, 60%, 80% and 100%), we chosed the 60% section as the 2D separation sample.

Secondly, after confirmed all the working parameters of this 2D separation system, apply it to separation of 60% section in the practical work. Through a one-time operation, we have acquired 16 compounds, 13 of which were identified by MS, ^1H -NMR and ^{13}C -NMR, this system exhibiting great advantages in analytical efficiency.

Finally, used traditional one-dimensional preparative technique for purification of 80% and 100% section, after many times repetitive operation, we acquird five biflavones. In this work , we have got 18 compounds in total, and based on the HPLC

method, we have confirmed their location in the total chromatogram. In conclusion, we successfully realized the separation of the main components of folium ginkgo in a rapid and efficient method, this can provide material foundation for the construction of holographic fingerprint of folium ginkgo and for the activity research in the future.

Keywords: MPLC×*prep*-HPLC; Polyamide×RPLC; Folium Ginkgo

缩略语

Abbreviation	Full Name
2D-LC	Two-Dimensional Liquid Chromatography
ODS, C18	Octadecylsilyl
MPLC	Medium Pressure Liquid Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
RP-HPLC	Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
PA	Polyamide
ESI-MS	Electrospray ionization-mass spectrum
m/z	Mass-to-charge ratio
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
^1H -NMR	^1H nuclear magnetic resonance
^{13}C -NMR	^{13}C nuclear magnetic resonance
DMSO	Dimethyl sulfoxide
δ	Chemical shift
J	Coupling Constant
d	Doublet
dd	Doublet of doublet
s	Singlet
t	Triplet
m	Multiplet

厦门大学博硕士论文摘要库

目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
缩略语.....	V
第一章 前言.....	1
1.1 引言.....	1
1.2 银杏叶综述.....	2
1.2.1 银杏叶简介.....	2
1.2.2 银杏叶的化学成分.....	3
1.2.3 银杏叶的药理活性.....	7
1.2.4 银杏叶化学成分的提取分离方法.....	9
1.3 二维液相色谱技术.....	11
1.3.1 二维液相色谱简介.....	11
1.3.2 全二维液相色谱技术的研究进展.....	12
1.3.3 二维液相色谱技术的应用.....	13
1.4 二维液相色谱正交性评价体系.....	13
1.5 立体依据.....	15
第二章 全二维液相色谱分离条件的选择与优化.....	16
2.1 引言.....	16
2.2 色谱耗材、试剂及仪器.....	16
2.2.1 实验耗材与试剂.....	16
2.2.2 实验仪器.....	17
2.3 银杏叶总提取物的准备.....	17
2.4 银杏叶总提物的二维分析预实验.....	17
2.4.1 银杏叶总提物的 HPLC 分析.....	17
2.4.2 银杏叶总提物的离线二维分析.....	19
2.5 银杏叶总提物的初步分离与分离条件优化.....	20

2.5.1 银杏叶总提物的初步分离.....	20
2.5.2 银杏叶 60%组分的二维色谱条件优化.....	22
2.6 二维串联模式的正交性考察.....	23
2.7 本章小结.....	25
第三章 银杏叶成分的在线分离.....	27
3.1 引言.....	27
3.2 色谱耗材、试剂及仪器.....	27
3.2.1 实验耗材与试剂.....	27
3.2.2 实验仪器.....	27
3.3 60%组分直接进样制备.....	27
3.4 PA×C18 制备型全二维液相色谱系统分离银杏叶成分.....	28
3.4.1 制备型全二维液相色谱系统的组成.....	28
3.4.2 在线分离工作参数的设定.....	30
3.4.3 银杏叶 60%组分的聚酰胺×反相模式在线二维分离.....	31
3.4.4 化合物的纯度检验及峰归属.....	33
3.5 80%组分和 100%组分的分离纯化.....	34
3.6 本章小结.....	35
第四章 化合物的结构解析.....	37
第五章 总结.....	49
参考文献.....	50
硕士期间发表的文章.....	57
致谢.....	58
附录.....	59

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.